



ラット海馬スライスにおいてカルバコールがピクロトキシン誘導てんかん様同期発火に及ぼす影響

著者	橋本 あゆみ
発行年	2017-12-27
学位授与番号	17104甲生工第307号
URL	http://hdl.handle.net/10228/00006560

氏名・（本籍）	橋本 あゆみ（ 福岡 ）
学 位 の 種 類	博 士（ 学 術 ）
学 位 記 番 号	生工博甲第 307 号
学位授与の日付	平成 29 年 12 月 27 日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	ラット海馬スライスにおいてカルバコールがピクロトキシン誘導てんかん様同期発火に及ぼす影響
論文審査委員会	委員長 立野 勝巳 准 教 授 大坪 義孝 准 教 授 工藤 卓 准 教 授 夏目 季代久 教 授

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、ラット海馬スライスを用いて、ピクロトキシン誘導てんかん様発火に対するアセチルコリン受容体活性化の効果を検討したものである。細胞外で記録されるてんかん様発火に対して、アセチルコリン受容体作動薬であるカルバコールを異なる濃度で投与することにより、アセチルコリン受容体活性化レベルに応じたてんかん様発火への効果を調べ、その機構についても検討している。実験結果より、アセチルコリン受容体活性化とてんかんの関係について考察するとともに、神経同期性の面からてんかん抑制の可能性について検討を行っている。加えて、同一スライスにおけるてんかん様発火とカルバコール誘導 β 振動の比較が可能であったことから、両者の伝播特性の違いについても実験も含めている。

第1章は序論である。研究の背景として、てんかんにおけるアセチルコリン作動性神経の役割を調べた先行研究において、てんかんを促進するまたは抑制するといった異なる結果が混在している現状について記述する。併せてアセチルコリンが海馬における神経同期性を変化させる可能性を指摘し、本主題に着目した理由を述べている。海馬におけるてんかん及びアセチルコリンに関する知見をまとめ、本研究の目的を示している。

第2章では、実験手法を示している。海馬スライス標本の作製方法及び使用した実験装置、ならびに細胞外電位記録の手法等について電極配置図を交えつつ説明している。データ解析方法の定義についても本章で述べている。

第3章では実験結果を示している。本研究では、ラット海馬スライスの CA3 領域においてカルバコールの投与実験を行い、カルバコールの濃度によってピクロトキシン誘導てんかん様発火に対する影響が大きく異なることを示された。カルバコールの効果としては、大きく2種類に分けられた。1～10 M のカルバコール投与は、てんかん様発火の周波数を増加させ振幅を減少させた。カルバコール 10 M ではてんかん様発火に混じ

って θ 振動が現れ、カルバコール 30 M まで濃度を上昇させるとカルバコール誘導 β 振動がてんかん様発火に置き換わった。加えて、カルバコールの投与下で CA3 リカレントネットワークシナプスにおける集合興奮性シナプス後電位 (pEPSP) が抑制されることが明らかになった。これらの結果はムスカリン性アセチルコリン受容体阻害薬であるアトロピンにより阻害された。これらに加えて、てんかん様発火と β 振動の 2 点記録の比較により、てんかん様発火と比較して β 振動において伝播速度が遅いことが明らかになった。

第 4 章では実験結果に基づく考察を行っている。カルバコール 1~10 μ M 投与下におけるてんかん様発火の周波数増加と振幅減少について、錐体細胞間の非同期化が進行した可能性を細胞外記録の原理より考察している。また、錐体細胞を非同期化させた要因として CA3 リカレントネットワークにおける EPSP の抑制を挙げ、その機構について推察している。カルバコール 30 μ M の投与により β 振動が誘導されててんかん様発火が抑制されたことから、先行研究において示されている θ 波のみならず、 β 波の発生によってもてんかんが抑制される可能性を示唆している。全体として、カルバコール誘導振動発生までの濃度領域では、ムスカリン性アセチルコリン受容体の活性化の増大に伴って CA3 リカレントネットワークにおける pEPSP が抑制されることにより興奮性シナプス結合が減弱し、錐体細胞間の非同期化が進むと考えられる。これにより最初に見られたてんかん様発火と比較して小集団での同期活動へとネットワークが変化していくというモデルを本論文において提案している。このような機構でアセチルコリン受容体の活性化を通じててんかんが抑制されていくと考えられ、これらの考察より、将来的な展望として、中隔の電気刺激によるアセチルコリン受容体活性化を介したてんかん発作抑制の可能性について述べている。

学 位 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は海馬におけるアセチルコリン受容体活性の変化とてんかんとの関係について詳細を明らかにし、錐体細胞の非同期化というモデルを提案した点で新規性を有すると言える。また、本研究によって明らかになったカルバコールがもたらすてんかん様発火への効果は、さらに *in vivo* 実験における検証等を通じてアセチルコリン作動性神経を介したてんかん抑制法の発展につながるものと考えられる。

また、公聴会においても、多数の出席者があり、種々の質問がなされたが、いずれも著者の説明によって質問者の理解が得られた。

以上により、論文審査及び最終試験の結果に基づき、審査委員会において慎重に審査した結果、本論文が博士（ 学術 ）の学位に十分値するものであると判断した。